

DOI : 10.31363/2313-7053-2019-4-1-84-85

Крысы, нокаутные по гену дофаминового транспортёра, как новая доклиническая модель гипер- и гипо-дофаминергических состояний

Суханов И.М.¹, Лео Д.², Тур М.А.¹, Белозерцева И.В.¹, Савченко А.А.¹, Гайнетдинов Р.Р.^{3,4}¹Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия²Университет Монса, Монс, Бельгия³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия⁴Российский национальный консорциум по психиатрической генетике

Резюме. Линия крыс без функционального дофаминового транспортёра (DAT-KO крысы) была создана относительно недавно. Отсутствие DAT проявляется у этих животных двигательной гиперактивностью и когнитивными нарушениями. В наших исследованиях было продемонстрировано, что введение амфетамина и метилфенидата снижает гиперактивность у данных животных. При блокаде синтеза дофамина у DAT-KO крыс у животных развивается выраженный дефицит этого нейромедиатора, что на поведенческом уровне проявляется двигательной гипоактивностью и каталепсией. Данные поведенческие изменения могут быть обращены введением леводопы, антипаркинсонического лекарственного средства. Полученные результаты подтверждают полезность линии DAT-KO крыс для моделирования нейropsychических расстройств, в основе которых лежат нарушения дофаминовой нейротрансмиссии.

Ключевые слова: дофамин, генетически модифицированные животные, крысы, доклинические исследования, СДВГ, болезнь Паркинсона.

Dopamine transporter knockout rats as the new preclinical model of hyper- and hypo-dopaminergic disorders

Sukhanov I.¹, Leo D.², Tur M.A.¹, Belozertseva I.V.¹, Savchenko A.¹, Gainetdinov R.R.³¹Valdman Institute of Pharmacology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia²Université de Mons, Mons, Belgium³Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Summary. Rat line lacking the dopamine transporter (DAT-KO rats) was recently developed. Lack of DAT in these mutants manifests behaviorally as spontaneous hyperactivity and cognitive deficits. It has been shown that d-amphetamine and methylphenidate paradoxically calm down these animals. Also, the inhibition of dopamine synthesis in DAT-KO rats represents a straightforward approach for developing the model of severe dopamine deficiency exhibiting characteristic akinetic phenotype which can be reversed by treatment with L-DOPA that used in Parkinson's disease. These results support the usefulness of DAT-KO rats as models of the disorders associated with dopaminergic dysfunction.

Keywords: dopamine, genetically modified animals, rats, preclinical studies, ADHD, Parkinson's disease.

Несмотря на то, что дофаминовые нейроны составляют менее 1% от общей популяции клеток ЦНС, нарушения их работы лежат в основе патогенеза целого ряда нейропсихических расстройств, включая болезнь Паркинсона, шизофрению, маниакально-депрессивный психоз, обсессивно-компульсивное расстройство, а также зависимости от психоактивных веществ. Дофаминовый транспортёр (dopamine transporter, DAT) — один из основных белков, вовлечённых в метаболизм дофамина в ЦНС, с помощью которого осуществляется обратный захват дофамина из синаптической щели.

Первые линии генетически модифицированных мышей со сниженной экспрессией DAT были созданы более 15 лет назад в Университете Дьюка (США). Данные линии включают: 1) мышей без функционального DAT (DAT-KO) и 2) мышей со сниженным до 90% уровнем экспрессии

DAT. Эти линии являются, пожалуй, самыми известными и одними из наиболее используемых генетически модифицированных животных в нейропсихофармакологии. Исследования на DAT-KO мышах позволили получить информацию о базовых принципах дофаминовой нейротрансмиссии, механизмах действия различных психотропных препаратов, взаимодействии важнейших нейромедиаторных систем ЦНС, а также о патофизиологических механизмах расстройств, связанных с нарушением дофаминовой нейротрансмиссии. Дальнейшие исследования, однако, настоятельно требовали разработки новых объектов/расширения спектра видов экспериментальных животных в связи с ограниченностью изучения ряда поведенческих реакций на мышах. DAT-KO крысы были созданы на основе аутбредных крыс стока Wistar Han путем редактирования генома с использованием нуклеаз с «цинковыми пальцами» (zinc fingers) в

SAGE Labs (Сент-Луис, Миссури, США) при финансовой поддержке фармацевтической компании Hoffmann-La Roche. У данной линии генетически модифицированных крыс отсутствует функциональный DAT благодаря делеции 5 нуклеотидов и инсерции раннего стоп-кодона в ген Slc6a3.

Выключение DAT приводит к тому, что уже у крыс в возрасте 1 месяц развивается выраженная гиперактивность, которая сохраняется как минимум до 4 месяцев. Известно, что психостимуляторы, такие как амфетамин и метилфенидат, используют в клинической практике для терапии пациентов, страдающих синдромом дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ). Если под действием амфетамина (1; 2; 3; 4 мг/кг, в/б) и метилфенидата (1,2; 2,5; 5 мг/кг, в/б) у крыс «дикого типа» и гетерозиготных животных развивалась выраженная дозозависимая гиперактивность, то у крыс без функционального DAT, введение данных психостимуляторов вызывало не повышение, а снижение двигательной активности (как горизонтальной, так и вертикальной). Аналогичное снижение двигательной гиперактивности у крыс без DAT вызывало введение RO5203648 (3 мг/кг, в/б), агониста рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, 1-го подтипа.

Для оценки когнитивных нарушений у самцов DAT-KO крыс были использованы: (1) обучение на основе вторичного подкрепления в оперантных камерах и (2) тест избавления подныриванием. Результаты выполненных экспериментов свидетельствуют, что выключение DAT связано с нарушением выработки у крыс оперантной реакции выглядывания в отверстие за пищевое подкрепление, а также к лишению способности решения задачи теста избавления подныриванием. В целом полученные экспериментальные данные могут свидетельствовать о том, что выключе-

ние DAT может вызывать когнитивный дефицит у крыс.

Из данной литературы известно, что под действием ингибитора фермента тирозингидроксилазы альфа-метил-паратирозина у мышей с выключенным DAT резко снижается уровень дофамина в ЦНС, что на системном уровне проявляется развитием двигательной гипоактивности и каталепсии. Результаты опытов с альфа-метил-паратирозином (150 мг/кг, в/б) у крыс без функционального DAT подтверждают данные предшествующих исследований: под действием данного фармакологического агента их двигательная активность снижается практически до нуля (dopamine-deficient DAT-KO крысы, DDD крысы). DDD крысы могут быть экспериментальной моделью болезни Паркинсона с высокой предиктивной валидностью, так как в наших исследованиях было продемонстрировано, что введение комбинации леводопы (20 мг/кг, в/б) и карбидопы (10 мг/кг, в/б), восстанавливает моторную активность у таких животных. Аналогичные результаты были продемонстрированы при тестировании действия ингибитора фермента фосфодиэстеразы 10A MP-10: введение этого соединения (3 мг/кг, в/б) уменьшало каталепсию, которую оценивали как время, проведенное животными в позе «лектора».

В целом, результаты проведенных исследований показывают, что DAT-KO крысы позволяют моделировать как гипер-, так и гиподопаминергические состояния в доклинических исследованиях. Данные модели обладают как внешней, так и предиктивной валидностью и могут быть использованы для разработки новых фармакологических подходов к лечению СДВГ и болезни Паркинсона.

Сведения об авторах

Суханов Илья Михайлович — канд. мед. наук, зав. лабораторией фармакологии поведения отдела психофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: ilia.sukhanov@gmail.com

Лео Дамина — PhD, исследователь отдела нейронаук университета Монса. E-mail: damiana.leo@gmail.com

Тур Маргарита Алексеевна — м.н.с. лаборатории экспериментальных доклинических исследований с виварием отдела психофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: vol4onok_07@mail.ru

Белозерцева Ирина Владимировна — канд. биол. наук, зав. отделом психофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: belozertseva@gmail.com

Савченко Артём Алексеевич — студент 6-го курса факультета «лечебное дело» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: artjom1996@yandex.ru

Гайнетдинов Рауль Радикович — канд. мед. наук, директор Института трансляционной биомедицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет». E-mail: gainetdinov.raul@gmail.com